

УДК: 615. 322:582.924.4,19:547.631.4

ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ТРАВИ ТА ЛЮФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ *THYMUS VULGARIS L.*

- <sup>1</sup> Л. А. Фуклева, к. фарм. н., ас. каф. фармакогн., фармхім. і технол. ліків факульт. післядиплом. освіти
- <sup>1</sup> О. В. Мазулін, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн., фармхім. і технол. ліків факульт. після диплом. освіти
- <sup>1</sup> Г. П. Смойловська, к. фарм. н., доц. каф. фармакогн., фармхім. і технол. ліків факульт. після диплом. освіти
- <sup>2</sup> А. О. Остапенко, к. фарм. н., ст. викл. каф. лаб. діагност. та загал. патол.
- <sup>1</sup> Г. В. Мазулін, канд. фарм. н., асист. каф. фармакогн., фармакол. та ботан.
- <sup>1</sup> Запорізький державний медичний університет
- <sup>2</sup> ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти»

Рід чебрець (*Thymus L.*) родини ясноткові (*Lamiaceae*) розповсюджений в Європі, Азії, північній Африці, країнах Середземномор'я і налічує понад 150 видів. Рослини роду характеризуються розмаїттям біологічних форм, успішно прилаштовуються до умов досить різноманітних природних біоценозів або культивуються у спеціалізованих господарствах [1, 6, 8, 9]. У країнах Європи найпоширеніші види з високим вмістом суми тимолу та карвакролу у складі ефірної олії (понад 30 %): *Thymus vulgaris L.* (чебрець звичайний), два подвиди *Th. zygis L.* (*Th. zygis L. var. gracilis Bois.* – ч. іспанський білий тонкий; *Th. zygis L. var. floribundus Bois.* – ч. іспанський білий квітучий) [10, 15]. До ДФУ 2-го видання та Європейської Фармакопеї 8-го видання включені *Serpylli herba* (ч. повзучий) та суміш трави *Th. vulgaris L.* з *Th. zygis L.* [2, 3].

Трава *Th. vulgaris L.* та фітопрепарати з неї популярні при лікуванні хвороб верхніх дихальних шляхів. Терапевтична активність рослини пов'язана з великим вмістом біологічно активних сполук. Згідно останніх фітохімічних досліджень, трава чебрецю звичайного містить: 0,5-2,0 % ефірної олії з компонентним складом до 360 летких сполук, флавоноїди (лютеолін, апігенін, цинарозид, акацетин, скутелларейн, норнепетин, байкалейн, диосметин та ін.), гідроксикоричні кислоти (кавова, ферулова, хінна, хлорогенова, розмаринова), тритерпенові сполуки (олеанолова, урсолова кислоти), амінокислоти, полісахариди, дубильні речовини, неорганічні елементи [4, 9, 12, 13, 14].

Багатий компонентний склад рослин, насамперед, високий вміст тритерпенів, флавоноїдів і гідроксикоричних кислот сприяє прояву протизапальної, антиоксидантної, антимікробної, детоксикаційної активності [8, 11]. У сучасній медицині використовують комплексні фітопрепарати з трави та ефірних олій видів роду *Thymus L.*: «Пертусін», «Піносол», «Алталекс», «Бронхікум», «Бронхіпрет», «Бронхостоп», «Ментоклар», «Пекторал», «Соматон» та ін. [4, 5].

**Метою даної роботи** було: дослідження якісного складу та кількісного вмісту флавоноїдів та гідроксикоричних кислот методом ВЕРХ у траві та люфільному екстракті чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris L.*).

## Матеріали та методи дослідження

За об'єкт дослідження використовували траву *Thymus vulgaris L.*, що являє собою квітучі верхові пагони з суцвіттям довжиною до 15 см, окремі листки та частки гілочок.

Рослинну сировину заготовляли у південних та східних регіонах України, на території яких розповсюджений *Thymus vulgaris L.* як звичайна культивована рослина (АР Крим, Запорізька, Дніпропетровська, Херсонська, Донецька, Миколаївська, Одеська області). Заготівлю сировини проводили згідно загальноприйнятих методик. Процес сушіння здійснювали у сушильній шафі при температурі 35 °С і товщині шару не більше 1 см.

Люфільні екстракти (ЛЕ) одержували в лабораторних умовах методом сублимаційного сушіння водних витягів з трави рослини (1:5) в асептичних умовах на установці КС-30 (Чехія).

Отримані ЛЕ були гігроскопічними, повітряно-аморфними порошками світло-жовтого кольору, добре розчинними у воді та спирті етиловому, нерозчинними у хлороформі, ацетоні, ефірі. Вихід кінцевого продукту становив до 30,44 ± 3,00 % при вологості 3,22 ± 0,31 %.

Відомо, що для ідентифікації та кількісного визначення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у рослинній сировині та екстрактах широко використовують фізико-хімічні методи аналізу (спектрофотометрію, фотоелектроколориметрію, потенціометрію, флюорометрію, ІЧ-спектроскопію, ПМР-спектроскопію, ТШХ, ВЕРХ) [7, 8]. Слід зазначити, що найбільш перспективним є метод ВЕРХ на мікрокапілярних колонках, який дає можливість проведення розділення досліджуваних компонентів, ідентифікації їх якісного складу й кількісного визначення концентрацій.

Для проведення досліджень використовували пристрій Agilent Technologies (мод. 1100) з вакуумним дегазатором G1379A, насосом низького тиску G13111A з чотирма каналами, інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, детектором G1316A. Хроматографічна колонка (2,1×150 мм) була заповнена октадецилсілільним сорбентом "ZORBAX-S BC-18" (d=3,5 мкм).

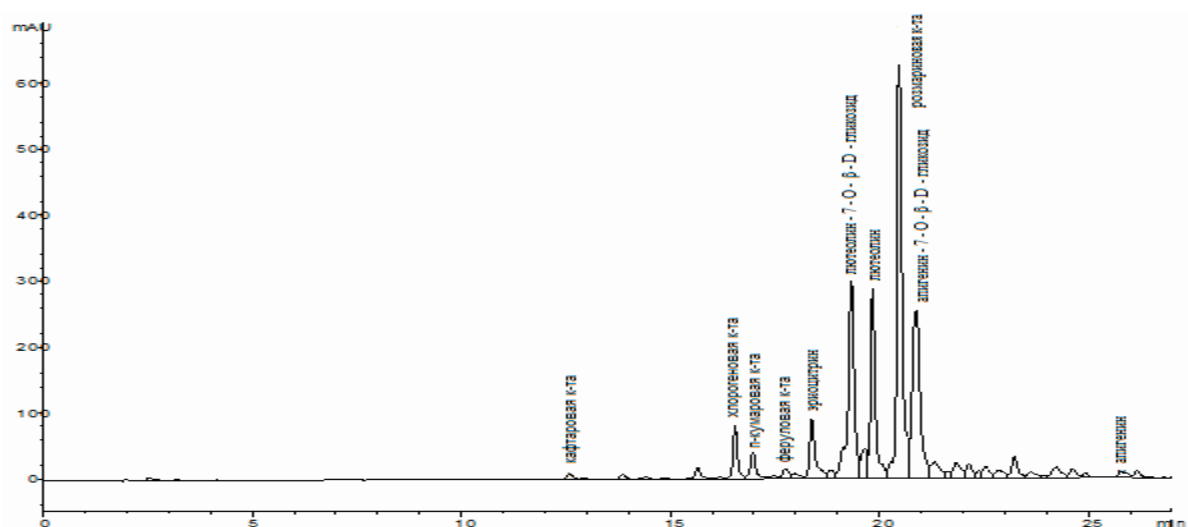


Рис. Хроматограма флавоноїдів і гідроксикоричних кислот трави *Thymus vulgaris* L.

Точну наважку (близько 0,5 г) подрібненої рослинної сировини ( $d = 0,5$  мм), вносили у мірну колбу ємністю 5 мл, додавали спирт метиловий 90 % до позначки. Процес екстрагування проводили протягом 30 хв. на ультразвуковому нагрівачі, витримували 24 год. при  $t = 25$  °С. Розчин центрифугували, фільтрували через тefлоновий мембранний фільтр ( $d=0,45$  мкм) у пробирку для проведення аналізу. Використовували рухомі фази: трифтороцтова кислота 0,2 % – спирт метиловий 70 %. Режим проведення аналізу: швидкість рухомої фази 0,25 мл/хв., тиск 240-300 кПа; температура термостата колонок ( $t = 32$  °С). Для ідентифікації речовин та визначення їх кількісного вмісту застосовували методи стандартних добавок та внутрішньої нормалізації. Отримані результати обробляли методом математичної статистики за програмою «Statistica 6.0 for Windows» (Stat.

Soft. Inc., №AXXR712D833214FANS). Достовірність отриманих відмінностей величин, оцінювали за  $t$ -критерієм Ст'юдента ( $p > 95\%$ ) [2].

### Результати дослідження та їх обговорення

Результати визначення складу та кількісного вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві та ЛЕ *Thymus vulgaris* L. представлені на рис. та у табл. Отримані нами результати свідчать про накопичення в траві *Thymus vulgaris* L. під час цвітіння 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Основними ідентифікованими сполуками були: апігенін-7-О-β-Д-глюкопіранозид (до  $0,80 \pm 0,04\%$ ); лютеолін-7-О-β-Д-глюкопіранозид (до  $0,74 \pm 0,04\%$ ), лютеолін (до  $0,70 \pm 0,04\%$ ), розмаринова кислота (до  $0,31 \pm 0,02\%$ ). Вперше ідентифіковані: еріодістрин, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислоти.

Вміст компонентів у ЛЕ був суттєво більшим і дорів-

Таблиця

Результати визначення вмісту флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у траві та ЛЕ *Thymus vulgaris* L., ( $\bar{x} + \Delta \bar{x}$ ),  $n=6$

Найменування сполуки	Кількісний вміст, %		Термін утримання (хв.)	$\lambda_{\max}$ (нм)
	трава	ЛЕ		
1. Кафтарова кислота	$0,001 \pm 0,0001$	$0,020 \pm 0,001$	12,75	290
2. Хлорогенова кислота	$0,011 \pm 0,001$	$0,242 \pm 0,010$	16,50	218; 245; 300; 326
3. п – кумарова кислота	$0,004 \pm 0,0003$	$0,212 \pm 0,011$	17,00	228; 310
4. Ферулова кислота	$0,002 \pm 0,0001$	$0,18 \pm 0,01$	17,85	235; 295; 325
5. Еріодістрин (еріодістіол-7-О-β-Д-рутинозид)	$0,040 \pm 0,002$	$0,200 \pm 0,013$	18,50	283; 325
6. Лютеолін-7-О-β-Д-глюкопіранозид	$0,74 \pm 0,04$	$3,68 \pm 0,18$	19,50	255; 267 пл.; 348
7. Лютеолін	$0,70 \pm 0,04$	$0,13 \pm 0,01$	20,00	240 пл.; 256; 268; 292
8. Розмаринова кислота	$0,31 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,04$	20,61	245; 287 пл.; 327
9. Апігенін-7-О-β-Д-глюкопіранозид	$0,80 \pm 0,04$	$0,20 \pm 0,01$	22,28	252; 312
10. Апігенін	$0,011 \pm 0,001$	$0,031 \pm 0,001$	26,11	267; 296 пл.; 336
Сума флавоноїдів	$2,29 \pm 0,11$	$4,24 \pm 0,19$		
Сума гідроксикоричних кислот	$0,33 \pm 0,02$	$1,37 \pm 0,07$		

нював: лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 3,68 ± 0,18 %), еріоцитрин (до 0,200 ± 0,013 %), апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 0,20 ± 0,01 %), лютеолін (до 0,13 ± 0,01 %), розмаринова кислота (до 0,72 ± 0,04 %), хлорогенова кислота (до 0,242 ± 0,010 %), п-кумарова кислота (до 0,212 ± 0,011 %), ферулова кислота (до 0,18 ± 0,01 %).

Досліджений якісний склад представлений поліфенольними сполуками, які є похідними флавону (апігенін, лютеолін, еріоцитрин) та їх глікозидами, які виявляють протизапальну, спазмолітичну, антиоксидантну та протимікробну активність [4, 8, 11].

Загальний вміст флавоноїдів становив до 2,29 ± 0,11 % для трави *Thymus vulgaris* L. та до 4,24 ± 0,19 % для ЛЕ. Відмічено значно менший вміст гідроксикоричних кислот, відповідно: 0,33 ± 0,02 % та 1,37 ± 0,07 %.

Аналіз одержаних результатів свідчить про необхідність визначення флавоноїдів та гідроксикоричних кислот

при стандартизації трави та препаратів з лікарської рослинної сировини видів роду *Thymus* L.

## Висновки

1. У результаті досліджень методом ВЕРХ трави та ліофільного екстракту *Thymus vulgaris* L., встановлено присутність 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. З них вперше: еріоцитрин, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислоти.

2. У найбільших концентраціях були присутні: апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид, лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид, еріоцитрин, лютеолін, розмаринова, хлорогенова, п-кумарова, ферулова кислоти.

3. Здатність до накопичення у траві *Thymus vulgaris* L. поліфенольних сполук – похідних флавону, свідчить про перспективність розробки комплексних фітопрепаратів з вираженою спазмолітичною, антиоксидантною та протимікробною активністю.

## Література

1. Васюков В. М. Обзор тимьянов (*Thymus* L., *Lamiaceae*) Самарской области / В. М. Васюков, С. В. Саксонов // Известия Самарского науч. центра РАН. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 64-68.
2. Державна Фармакопея України: у 3 т. / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х.: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.
3. Компендиум 2015 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2015. – 1408 с.
4. Старчак Ю. А. Фармакогностическое изучение растений рода Тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов: автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. фарм. наук: спец. 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Ю. А. Старчак. – Самара, 2016. – 47 с.
5. Фенольные соединения и антиоксидантная активность уральских представителей рода *Thymus* (*Lamiaceae*) / Л. И. Алексеева, Л. В. Тетернюк, А. Г. Быструшкин, А. Бульшиева // Раст. ресур. – 2012. № 1. – С. 110-118.

6. Фуклева Л. А. Изучение состава и возможность использования чабреца обыкновенного и крымского в фармацевтической практике / Л. А. Фуклева, Л. А. Пучкан // Науч. вестн. Серия мед., фармац. – 2013. – № 18 (161), вып. 21. – С. 207-210.
7. *European Pharmacopoeia*. 8 edition. Volume 2. – Strasbourg, 2014. – 2133 с.
8. Hossain M. A. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris* / M. A. Hossain, K. A. AL-Raqmi, Z. H. AL-Mijzi [et al.] // *Asian Pac J Trop Biomed*. – 2013. – 9. – P. 705-710.
9. Komaki A. Study of the Effect of Extract of *Thymus Vulgaris* on Anxiety in Male Rats / A. Komaki, F. Hoseini, S. Shahidi, N. Baharlouei // *J. Tradit. and Complemen. Med.* – 2016. – 6(3). – P. 257-261.
10. Pavel M. Essential oils of *Thymus pulegioides* and *Thymus glabrescens* from Romania: chemical composition and antimicrobial activity / M. Pavel, M. Ristic, T. Stevic // *J. Serb. Chem. Soc.* – 2010. – Vol. 75, N. 1. – P. 27-34.

Надійшла до редакції 10.11.2016

УДК: 615.322:582.924.4,19:547.631.4

Л. А. Фуклева, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська,  
А. О. Остапенко, Г. В. Мазулін

ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК  
ТРАВИ ТА ЛІОФІЛЬНОГО ЕКСТРАКТУ *THYMUS*  
*VULGARIS* L.

**Ключові слова:** високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), трава, чебрець звичайний, флавоноїди, гідроксикоричні кислоти.

Методом ВЕРХ на приладі "Agilent Technologies" (хроматографічна колонка "ZORBAX-S BC-18") проведено дослідження складу поліфенольних сполук трави та ліофільного екстракту *Thymus vulgaris* L. і встановлено присутність 5 флавоноїдів та 5 гідроксикоричних кислот. Основними ідентифікованими сполуками були: апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 0,80±0,04 %); лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозид (до 0,74±0,04 %), лютеолін (до 0,70±0,04 %), розмаринова кислота (до 0,34±0,02 %). Вперше ідентифіковані: еріоцитрин, кафтарова, п-кумарова та ферулова кислоти. Склад компонентів у ліофільному екстракті був ідентичним, а кількісний вміст значно більшим, ніж у траві рослини. Здатність до накопичення поліфенольних сполук – похідних флавону, свідчить про перспективу розробки комплексних фітопрепаратів з вираженою спазмолітичною, антиоксидантною та протимікробною активністю.

Л. А. Фуклева, А. В. Мазулін, Г. П. Смойловская,  
А. А. Остапенко, Г. В. Мазулін

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА ПОЛІФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
ТРАВЫ И ЛИОФИЛЬНОГО ЭКСТРАКТА *THYMUS*  
*VULGARIS* L.

**Ключевые слова:** высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), трава, тимьян обыкновенный, флавоноиды, гидроксикоричные кислоты.

Методом ВЭЖХ на приборе "Agilent Technologies" (хроматографическая колонка "ZORBAX-S BC-18") проведено исследование состава полифенольных соединений травы и лиофильного экстракта *Thymus vulgaris* L. и установлено присутствие 5 флавоноидов и 5 гидроксикоричных кислот. Основными идентифицированными соединениями были: апигенин-7-О-β-D-глюкопиранозид (до 0,80 ± 0,04 %); лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид (до 0,74 ± 0,04 %), лютеолин (до 0,70 ± 0,04 %), розмариновая кислота (до 0,34 ± 0,02 %). Впервые идентифицированы: эриоцитрин, кафтаровая, п-кумаровая и феруловая кислоты. Состав компонентов в лиофильном экстракте был идентичным, а количественное содержание значительно больше, чем в траве растения. Способность к накоплению полифенольных соединений – производных флавоноидов свидетельствует о перспективе разработки комплексных фитопрепаратов с

выраженной спазмолитической, антиоксидантной и противомикробной активностью.

L. A. Fukleva, O. V. Mazulin, G. P. Smoylovska, A. A. Ostapenko, G. V. Mazulin

## STUDY OF POLYPHENOLIC COMPOUNDS OF HERB AND LYOPHILIC EXTRACT OF THYMUS VULGARIS.L.

**Keywords:** high-performance liquid chromatography (HPLC), herb, *Thymus vulgaris*, flavonoids, hydroxycinnamic acids.

The study of polyphenolic compounds of the herb and lyophilic extract of *Thymus vulgaris* carried out by HPLC method on apparatus "Agilent

Technologies" (chromatographic column "ZORBAX-S-BC-1.8") has been established the presence of 5 flavonoids and 5 hydroxycinnamic acids. The main identified compounds were apigenin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (to 0.80 $\pm$ 0.04 %), luteolin-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (to 0.74 $\pm$ 0.04 %) and rosmarinic acid (to 0.34 $\pm$ 0.02). Eryocitrin, acids caftaric, p-coumaric and ferulic have been identified for the first time. Components of lyophilic extract were the same, but their number was more significant than in herb. The capacity to accumulate polyphenolic compounds originated from flavone indicates promising prospects for obtaining complex plant-based medicines with pronounced spasmolytic, anti-oxidant and antibacterial effect.



УДК 615.322.099.07:582.929.4

## МОРФОЛОГО-АНАТОМІЧНА БУДОВА ТРАВИ *LOPHANTHUS ANISATUS* (NUTT.) BENTH

■ <sup>1</sup> М. І. Шанайда, к. біол. н., доц. каф. фармакогн. з мед. ботан.

<sup>2</sup> Л. М. Сіра, к. фарм. н., доц. каф. ботан.

<sup>2</sup> А. О. Мінаєва, к. біол. н., доц. каф. ботан.

■ <sup>1</sup> ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України»

<sup>2</sup> Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Лофант анісовий (*Lophanthus anisatus* (Nutt.) Benth)** – багаторічна трав'яниста рослина родини *Lamiaceae*, яка походить з Північної Америки та культивується на всіх континентах як пряно-смакова, медоносна і декоративна рослина [7]. В Україні рослина добре акліматизувалась; створено ряд нових сортів лофанту анісового, зокрема, в Національному ботанічному саду ім. М. М. Гришка НАН України [2]. Видова назва має більше 10 синонімів, найпоширеніший з яких – **багатоколосьник фенхельний (*Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze)** [9].

У народній медицині лофант анісовий використовують для лікування застуди, запальних захворювань шкіри, як імуностимулюючий засіб тощо [10]. Ця цілюща рослина не входить до вітчизняної та Європейської фармакопей, а на фармацевтичному ринку України не зареєстровано жодного фітозасобу, який би включав як компонент траву лофанту анісового [1]. Разом з тим, науковці вказують на високий вміст деяких груп фенольних сполук та ефірних олій в надземних органах рослини [4, 5, 10]. Це спонукало до комплексного фармакогностичного вивчення *Lophanthus anisatus* та відкриває перспективу введення сировини цього культивованого виду до переліку офіційної.

Важливим завданням фармакогностичного аналізу неофіційних лікарських рослин, поряд з фітохімічними та фармакологічними дослідженнями, є встановлення їх автентичності шляхом детального аналізу морфологічних та анатомічних ознак. У зв'язку з великою гетерогенніс-

тю рослинного матеріалу через явища значної глобалізації в останні роки наголошується на важливості такого комплексного підходу до стандартизації лікарської рослинної сировини [8]. Тим більше, що сучасний рівень розвитку світлової мікроскопії дозволяє здійснити мікроаналіз сировини на належному рівні. У літературних джерелах трапляється лише спорадична інформація щодо діагностичних ознак лофанту анісового [6].

**Метою роботи** було морфологічне та анатомічне дослідження трави *Lophanthus anisatus* – неофіційної лікарської рослини родини *Lamiaceae*, яка є перспективною для впровадження у вітчизняну фармацевтичну галузь.

### Матеріали та методи дослідження

Траву лофанту анісового, культивованого на території Західного Поділля, заготовляли у 2014-2015 рр. у період масового цвітіння. Надземну частину зрізали ножем на рівні нижніх листків та висушували при температурі 30-35 °C у добре провітрюваному приміщенні, захищеному від прямих сонячних променів.

Мікроскопічному аналізу підлягала цілісна та подрібнена трава. Зразки сировини фіксували у суміші гліцерин-спирт-вода (1:1:1). При морфологічному аналізі сировини неозброєним оком, за допомогою лупи та бінокулярного мікроскопа було визначено колір, форму, розмір, характер поверхні її складових. При виготовленні мікропрепаратів використовували загальноприйнятні методи аналі-